



SAVONIA

INR-näytteen säilyvyys kokoverenä

Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden
kliinisen kemian laboratoriossa

Anne Kalliomäki

Opinnäytetyö

Ammattikorkeakoulututkinto

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Anne Kalliomäki	
Työn nimi INR-näytteen säilyvyys kokoverenä Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden klinisen kemian laboratoriossa	
Päiväys 19.11.2012	Sivumäärä/Liitteet 34/2
Ohjaaja(t) Lehtori Sanna Kolehmainen	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden (Eksote), klinisen kemian laboratorio	
Tiivistelmä <p>Laboratorionäytteiden säilyttäminen ja kuljetus ovat osa kliinistä laboratoriotutkimusprosessia. Tutkimusten keskittyessä yhä enemmän isoihin laboratoriokeskuksiin myös näytteiden kuljetus ja säilyttäminen ovat yleistyneet. Vaatimuksena on, ettei näytteen koostumus muutu kuljetuksen tai säilytyksen aikana.</p> <p>INR on laboratoriotutkimus, jota käytetään laskimotukoksien ehkäisyyn tarkoitetun varfariinihoidon seurannassa. Etenkin alaraajan laskimoihin voi muodostua epätoivottuja hyytymiä esimerkiksi pitkän vuodelevon seurauksena, mutta syyt voivat olla myös perinnöllisiä. Oraalisesti annosteltu varfariini on seurattavuutensa ja edullisuutensa vuoksi yhä tärkein ja käytetyin antikoagulantti, vaikka sen rinnalle on tullut uusia valmisteita.</p> <p>Opinnäytetyön tarkoituksena oli kuvata, miten vuorokauden jääkaappiseisotuksen jälkeen kokoverenä ja plasmana säilytettyjen näytteiden tulokset eroavat toisistaan sekä näytteenottopäivänä analysoidusta näytteestä. Näytteet kerättiin laboratorionäytteenotossa käyneiltä asiakkailta, joiden tutkimuksissa oli mukana INR. Tuoreista näytteistä analysoitiin INR, johon yön yli säilytettyjen näytteiden arvoja verrattiin. Rinnakkaisnäytteitä säilytettiin jääkaapissa myös plasmana, ja kokoverinäytteen arvoja verrattiin myös plasmaa säilytettyjen näytteiden tuloksiin. 25 näytettä otettiin natriumsitraattiputkeen. Näyte jaettiin kahteen erotteluputkeen. Toinen putkista sentrifugoitiin plasmaksi ja toinen pidettiin kokoverenä. 13 näytettä otettiin kahteen eri natriumsitraattiputkeen, joista toinen sentrifugoitiin plasmaksi ja toinen säilytettiin kokoverenä (n=38).</p> <p>Kokoverenä säilyttäminen pääsääntöisesti kohotti INR-arvoja verrattuna heti analysoituun näytteeseen sekä plasmana säilytettyyn näytteeseen, kun näyte oli jaettu yhdestä natriumsitraattiputkesta. Kahteen eri natriumsitraattiputkeen otettujen näytteiden arvot pääsääntöisesti laskivat vertailuarvoihin nähden. Muutokset olivat kuitenkin pieniä. Tulosten perusteella voidaan sanoa, että kokoverenä jääkaapissa säilyttäminen ei vaikuttanut INR-tuloksiin merkittävästi. Tutkimuksen otos oli kuitenkin pieni ja muiden muuttujien vakiointi ei onnistunut täysin. Tutkimuksen tulokset eivät ole yleistettävissä muiden laboratorioden käyttöön, koska eri laboratorioilla on esimerkiksi erilaiset näytekuljetuskäytännöt ja erilaiset näyteputket käytössä.</p>	
Avainsanat INR, verinäytteen säilyvyys	

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme in Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Anne Kalliomäki			
Title of Thesis Stability of an INR-sample in whole blood in South Karelia Social and Health Care Districts laboratory of Clinical Chemistry			
Date	19.11.2012	Pages/Appendices	34/2
Supervisor(s) Senior lecturer Sanna Kolehmainen			
Client Organisation/Partners South Karelia Social and Health Care District (Eksote), laboratory of Clinical Chemistry			
<p>Abstract</p> <p>Storing and transportation of laboratory samples is a part of preanalytical phase of clinical laboratory studies. As the analysis of samples focuses even more on big laboratory centers transporting and storing of samples has become more common. The requirement is that there is no change in composition of the sample during shipment or storage.</p> <p>INR is a laboratory test that is used for monitoring varfarin treatment, which is used on the prevention of venous blood clots. Clots may form in veins as a result of long bed rest, especially to lower limbs. The reasons may also be hereditary. Orally given varfarin is still an important anticoagulant even though new products have been developed, because its use is easy to monitor and it is inexpensive.</p> <p>In this thesis the goal was to describe how the results from a INR-sample kept in refrigerator for 24 hours differ between whole blood and plasma and between stored whole blood and a sample analysed in the day of collection. The samples were collected in taking of venous blood samples from clients whose samples included INR. INR was analysed from fresh samples and results from stored samples were compared to that value. Samples were also stored in a refrigerator as plasma and the whole blood sample were also compared with the values from plasma. 25 samples were taken in a single tube containing sodium citrate and the sample was divided into two clean tubes. 13 samples were taken in two tubes containing sodium citrate. One tube was centrifuged to plasma and the other kept as whole blood (n=38).</p> <p>Preservation of whole blood mainly raised INR values when the sample was divided from one tube. This applied when compared to values from fresh sample and storage plasma. When samples were taken in two tubes values generally decreased from comparison values. The changes were low. The results indicate that storing as whole blood didn't effect INR-results significantly. However, the amount of samples was small and controlling other variables was not completely successful. The results of the survey are also not to be generalized to other laboratories, as different laboratories have different transportation practices and use different test tubes, for example.</p>			
<p>Keywords INR, stability of blood samples</p>			



SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	7
2	VEREN HYYTYMINEN	9
2.1	Veren hyytymisjärjestelmä	9
2.2	Veren hyytymishäiriöt ja niiden hoito	10
2.2.1	Laskimotukostaipumus ja antikoagulanttihoito.....	10
2.2.2	Verenvuototaipumus	13
3	VERINÄYTTEIDEN SÄILYTYS JA KULJETUS	14
3.1	Yleistä säilytyksestä ja kuljetuksesta	14
3.2	INR-näytteen säilytys ja kuljetus	15
3.3	Näytteiden säilytykseen ja kuljetukseen liittyviä tutkimuksia.....	16
4	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSKYSYMYKSET	18
5	TYÖN TOTEUTUS	19
5.1	Tutkittavat näytteet.....	19
5.2	Tutkimusmenetelmä.....	20
5.3	Aineiston analysointi.....	21
6	TUTKIMUSTULOKSET	22
6.1	INR-tuloksissa ilmenevät erot plasmassa ja kokoveressä säilytyksen jälkeen	22
6.1.1	Yhdestä natriumsitraattiputkesta jaetut näytteet	22
6.1.2	Kahteen eri natriumsitraattiputkeen otetut näytteet	22
6.2	INR-tuloksissa ilmenevät erot tuoreesta näytteestä ja säilytetystä kokoverestä saatujen tulosten välillä.....	25
6.2.1	Yhdestä natriumsitraattiputkesta jaetut näytteet	25
6.2.2	Kahteen eri natriumsitraattiputkeen otetut näytteet	25
7	POHDINTA.....	28
7.1	Tutkimuksen eettisyys ja luotettavuus.....	28
7.2	Tulosten pohdinta ja työn hyödynnettävyys.....	29
7.3	Ammatillinen kehittyminen.....	30
	LÄHTEET	31

LIITTEET

Liite 1 Suomalaisten laboratorioden säilytys- ja kuljetusohjeita INR-näytteelle

Liite 2 Tutkimuslupa

1 JOHDANTO

Laskimotukoksien pitkäkestoiseen ehkäisyyn käytetään yleisesti suun kautta otettavaa varfariinihoitoa. Hoidon vaikutuksen spesifinen tutkimus on tromboplastiiniajan INR-tulostusmuoto. INR tulee sanoista International Normalized Ratio (Joutsikorhonen & Koski 2010, 288), ja nimensä mukaisesti sen avulla voidaan vertailla eri menetelmillä saatuja tromboplastiiniaikoja keskenään jopa maailmanlaajuisesti (Eksote 2012a). INR on tärkeä ja käytetty tutkimus, sillä vaikka markkinoille on tullut uusia veren ohennukseen tarkoitettuja valmisteita, on varfariini edullisuutensa ja seurattavuutensa puolesta käytössä todennäköisesti vielä pitkään (Koski 2010a, 181–182).

Näytteiden analysointia on nykyään keskitetty isompiin laboratorioihin, minkä vuoksi näytteiden kuljettaminen esimerkiksi maakuntien syrjäisemmiltä paikkakunnilta keskuskuslaboratorioon on yleistynyt (Tapola 2003, 29). Näytteitä voidaan joutua myös säilyttämään esimerkiksi yön yli odottamassa analysointia (Kouri ym. 2002, 140). INR-analyysiin käytetään natriumsitraatilla antikoaguloitua plasmaa, joten näytteet tulee näytteenoton jälkeen sentrifugoida (Eksote 2012a). Näytteitä otetaan laboratorioiden lisäksi esimerkiksi osastoilla ja kotisairaanhoidossa, jolloin sentrifugoitavat näytteet on toimitettava laboratorioon mahdollisimman pian.

Opinnäytetyön toimeksiantaja on Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystoimisto, lyhennettynä Eksoten, laboratoriokeskuksen klinisen kemian laboratorio. Yhdyshenkilönä toimeksiantajalle toimii laboratoriokeskuksen osastonhoitaja. Laboratoriokeskuksen klinisen kemian laboratorio sijaitsee Lappeenrannassa Etelä-Karjalan keskussairaalassa. Verinäytteitä kuljetetaan laboratoriokeskukseen maanteitse varsin laajalta alueelta. Laboratoriokeskuksen osastonhoitajan mukaan näytteitä pakettiautolla kuljettavan yrityksen kuljetusajoneuvoille on asetettu tiettyjä vaatimuksia. Niissä täytyy esimerkiksi olla kunnollinen ilmastointi kesäisin ja lämmitys talvisin, ja kuljetustilassa täytyy olla liukuestematto. Myös jonkinlaista lokeroitua kuljetustilaan on toivottu. (Tolppanen 2011.)

Kliinisen kemian laboratoriossa oltiin kiinnostuneita selvittämään, muuttuvatko INR-näytteestä saadut tulokset merkittävästi, kun näyte säilytetään kokoverenä. Taustalla oli kotisairaanhoidosta tulleet tiedustelut, sillä esimerkiksi iltapäivällä INR-näytteet on kuljetettava pitkienkin matkojen päästä laboratorioon vähintään sentrifugoitavaksi, jotta näyte saadaan eroteltua plasmaksi ja odottamaan analysointia. Näytteen säilyt-

täminen kokoverenä jääkaapissa mahdollistaisi näytteen lähettämisen laboratorioon seuraavana päivänä, ja yksittäisiltä matkoilta laboratorioon välttyttäisiin.

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää, voidaanko näytteitä säilyttää kokoverenä jääkaapissa, ja tuottaa tietoa, jolla voidaan parantaa maakunnista kuljetettavien näytteiden laatua ja luotettavuutta sekä potilasturvallisuutta. Mikäli näytteen voi säilyttää kokoverenä jääkaapissa, helpottaa se kotisairaanhoidon työtä ja asiakkaan arkea, kun näytteen voi ottaa mihin aikaan päivästä tahansa asiakkaalle ja työntekijöille sopivana ajankohtana. Tarkoituksena oli kuvata, miten jääkaappisäilytyksen jälkeen kokoverestä ja plasmasta saadut tulokset eroavat toisistaan sekä näytteenottopäivänä analysoidusta näytteestä.

2 VEREN HYYTYMINEN

2.1 Veren hyytymisjärjestelmä

Kun verisuonen sisäpinta vaurioituu, aloittavat veren trombosyytit pienimpien vaurioiden korjaamisen kiinnittymällä vauriokohtaan ja aggregoitumalla eli tarttumalla toisiinsa. Samaan aikaan verisuonen seinämät supistuvat, mikä vähentää vuotoa vauriokohdassa. (Nienstedt, Hänninen, Arstila & Björkqvist 2008, 179–180; Koski 2010b, 159–161.) Trombosyyttien aktivoitumisen saavat aikaan vaurioituneen verisuonen pinnan alta paljastuneet rakenteet, kuten kollageeni ja von Willebrand-tekijä. Aktivoituneet trombosyytit erittävät suonia supistavia tekijöitä, trombosyyttien aggregoitumista edistäviä tekijöitä sekä hyytymistekijöitä. Tätä verisuonten ja trombosyyttien yhteistoimintaa kutsutaan myös primaariksi hemostaasiksi. (Koski 2010b, 159.)

Mikäli vaurio on suurempi, ei trombosyyttien muodostama niin sanottu valkea hyytymä ja verisuonen seinämien supistuminen riitä, vaan tarvitaan veren hyytymistekijöitä. Ne ovat entsyymejä, jotka aktivoituvat ketjussa siten, että yhden tekijän aktivoituminen pilkkoo seuraavan tekijän entsyymistä osan pois, jolloin tämä tekijä aktivoituu. Puhutaan hyytymisen vesiputousmallista tai hyytymiskaskadista, jossa hyytymistekijöitä kuvataan roomalaisin numeroin. Hyytymisreaktio etenee nopeasti, sillä aktivoitunut hyytymistekijä aktivoi suuren joukon seuraavan tekijän molekyylejä. (Nienstedt ym. 2008, 179–180; Koski 2010b, 159–161.) Kalsium on tärkeä monen hyytymistekijän toiminnan kannalta, ja siksi veren keräämiseen tarkoitettuihin koeputkiin on lisätty kalsiumin sitojia, esimerkiksi sitraattia, mikäli veren ei haluta hyytyvän (Koski 2010b, 162).

Hyytymisreaktio voi aktivoitua joko sisäisen tai ulkoisen aktivaatiotien kautta. Sisäisessä aktivaatiotiessä hyytymisen käynnistää verisuonesta eroavan pinnan, esimerkiksi kollageenisyiden paljastuminen vaurion seurauksena, mikä johtaa trombosyyttien aggregoitumiseen. Verihiutaleiden tarttuessa vauriokohtaan ja toisiinsa hyytymistekijä XII aktivoituu ja aloittaa hyytymisreaktion. Ulkoinen aktivaatio on ”oikotie”, jossa tuhoutuvista kudoksista vapautuvat tekijät käynnistävät reaktion lähempää loppupäättä. Kummassakin tapauksessa lopputuotteena syntyy protrombiinista trombiinia, joka pilkkoo fibrinogeenin fibriniiksi. Fibrini muodostaa hyytymäkohtaan verkkomaisen pinnan, johon veren solut jäävät kiinni. (Nienstedt ym. 2008, 18–181; Koski 2010b, 159–161)

Elimistön täytyy myös rajoittaa hyytymistä, jotta se ei leviä vauriokohdan ulkopuolelle. Hyytymistä säätelee veren virtaus, joka vie mukanaan hyytymistekijöitä maksaan tuhottavaksi, sekä huuhtoo trombosyyttejä ja fibrinogeeniä ennen kuin ne ehtivät kiinnittyä hyytymään. Hyytymistekijät myös kuluvat hyytymän muodostuessa. Ehjään suonenseinämään ei pääse syntymään hyytymää, koska se erittää prostasykliiniä, joka estää trombosyyttien aggregoitumisen. Hyytymiselle on myös vastareaktio, fibrinolyysi eli fibriniin pilkkoutuminen, joka osaltaan rajoittaa hyytymän muodostumista ja on osatekijä vauriokohdan paranemisessa. (Nienstedt ym. 2008, 180–182.)

2.2 Veren hyytymishäiriöt ja niiden hoito

2.2.1 Laskimotukostaipumus ja antikoagulanttihoito

Verisuoniin voi muodostua epätoivottuja hyytymiä, trombeja, esimerkiksi leikkauksen jälkeen, jolloin elimistö erittää tavallista enemmän tiettyjä hyytymistekijöitä kuten fibrinogeeniä. Trombeja muodostuu herkästi etenkin alaraajoihin, koska veren virtaus on niissä hitaampi ja esimerkiksi leikkauksen jälkeisessä vuodelevossa jalat ovat liikkumattomina samassa asennossa pitkiä aikoja. Jos trombi irtaantuu muodostumiskohdastaan ja kulkeutuu ohueen verisuoneen, puhutaan emboluksesta. (Nienstedt ym. 2008, 183.) Tromboosin syy voi olla myös perinnöllinen, kuitenkin vain noin 60 % tapauksista löytyy perinnöllinen syy. Lisäksi tromboosin syntyminen on yleensä myös useamman samanaikaisen riskitekijän summa, jolloin hankinnainen syy voi yhdessä perinnöllisen tukostaipumuksen kanssa johtaa trombin syntymiseen, vaikka aikaisemmin tukoksia ei olisi ollut. (Koski 2010a, 172–175.)

Laskimotromboosin antikoagulanttihoito (AK-hoito) toteutetaan yleensä suun kautta tablettihoitona käyttäen varfariinia, joka on tällä hetkellä yleisin ja tärkein käytettävä antikoagulantti. Hoitoon voidaan käyttää myös hepariinia joko suonensisäisesti tai ihonalaisesti. Nykyään käytetään yleensä pienimolekyyllisiä hepariineja, jotka vaikuttavat aktivoitua hyytymistekijä X:tä estävästi. Varfariinilla toteutettavan AK-hoidon alussa hepariinia käytetään varfariinin rinnalla, kunnes varfariinin täysi antikoagulaatiovaikutus saavutetaan. Varfariinihoito aloitetaan yleensä suoraan arvioidulla ylläpitoannoksella. AK-hoidon kesto on yksilöllistä, mutta se vaihtelee 3–6 kuukauden välillä. Jos potilaalla kuitenkin on ollut henkeä uhkaava tukos, useita tukoksia tai tukos on

syntynyt ilman altistavaa tekijää, jatketaan hoitoa usein loppuelämän. (Lassila 2011; Koski 2010a, 181–183.)

AK-hoidon indikaatioita laskimotromboosin lisäksi ovat esimerkiksi eteisvärinä ja tekoläpät (Lassila 2011). Eteisvärinä altistaa sydänperäisen tukoksen syntymiselle, sillä eteisten pumppaustoiminnan lamautuminen johtaa veren seisomiseen eteisissä. AK-hoidon tarve eteisvärinässä arvioidaan potilaskohtaisesti riskitekijöiden mukaan, mutta sen on kuitenkin kiistatta todettu parantavan eteisvärinäpotilaiden ennustetta. (Raatikainen 2012.) Mekaaniset tekoläpät altistavat myös sydänperäisille tukoksille, sillä niiden pinnalle muodostuu ohut proteiinerkerros, johon verihyaleet ja valkosolut tarttuvat. Biologisilla materiaaleilla ongelma ei ole niin suuri, sillä läppien pinta yleensä peittyy potilaan omalla kudoksella. Erityisesti mitraaliläpän kohdalla tukosvaara on suurentunut, sillä sen kohdalla veren virtaus on hidasta ja veri paine-erojen vuoksi lammikoituu herkästi vasempaan eteiseen. (Halinen & Lassila 2000, 157–165.)

Varfariini estää K-vitamiinista riippuvaisten hyytymistekijöiden, esimerkiksi II, VII ja X, syntetisoinnin maksassa. Tavallisimpana sivuvaikutuksena hoidossa ovat verenvuodot, joiden syynä voi olla lääkkeen liian suuri pitoisuus tai muutokset potilaan ravinnossa tai muussa lääkityksessä. Varfariinin vaikutus voidaan kumota joko antamalla potilaalle plasmavalmistetta tai K-vitamiiniriippuvaisia hyytymistekijöitä sisältävää valmistetta. Potilaalle voidaan myös antaa K-vitamiinia, mutta tällöin antikoagulaatiovaikutuksen saavuttaminen hidastuu kun hoito aloitetaan uudelleen. (Koski 2010a, 181–182).

Varfariinin rinnalle on tullut käyttöön uusia antikoagulantteja, kuten dabigatraani ja rivaroksabaani. Niiden käyttö on vielä uutta, esimerkiksi dabigatraani on ollut Suomessa pitkäaikaiskäytössä eteisvärinässä vuodesta 2011. Uusia antikoagulantteja käytettäessä ei yleensä tarvita laboratorioseurantaa niiden ennustettavan imeytymisen ja aineenvaihdunnan vuoksi. (Koski 2010a, 181–182; Helin, Pakkanen & Joutsikorhonen 2012, 142). Uusien antikoagulanttien etuna on harvinaisempi vakavien vuotojen esiintyminen. Toisaalta uusille antikoagulanteille ei ole laajalti saatavissa laboratoriotutkimuksia, eikä näille valmisteille ole vielä vasta-ainetta. Ne ovat myös varfariinia kalliimpia. Siksi varfariini on todennäköisesti vielä pitkään tärkeä lääke AK-hoidossa. (Koski 2010a, 181–182.)

AK-hoidon seurannassa käytetään tromboplastiiniajan (TT) mittaamista. Suomen laboratorioissa TT-määritys tehdään natriumsitraattiplasmasta Owren-menetelmällä,

jossa hyytymisaika on riippuvainen hyytymistekijöiden II, VII ja X aktiivisuuksista (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 288). Varfariinihoidon seurannassa käytetään yleensä tromboplastiiniajan INR-tulostusmuotoa, jonka avulla erilaisilla menetelmillä saatuja tromboplastiiniaikoja voidaan verrata keskenään (Eksote 2012a). INR tulee sanoista International Normalized Ratio (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 288). INR-tuloksen laskennassa otetaan huomioon potilasnäytteen ja normaaliplasman hyytymisajat sekä reagenssikohtaiset herkkyystekijät (Helin ym. 2012, 143).

INR-näytteenä käytetään natriumsitraattiputkeen otettua laskimoverta (Eksote 2012a). Näyteputkissa oleva natriumsitraatti sitoo verestä kalsiumia, ja sen suositeltava pitoisuus on 3,2 % (Savolainen 2007, 86.) Natriumsitraatin tarkoitus on estää veren hyytyminen (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 40). Oikea veren ja natriumsitraatin suhde on 1 osaa sitraattia ja 9 osaa verta. Eroa tilavuudessa saa olla 10% kumpaankin suuntaan. Putken etiketissä, josta on esimerkki kuvassa 1, on oikean täyttöasteen arvioimisen helpottamiseksi musta nuoli, jonka ylä- ja alareunojen väliin veripinnan tulee jäädä. (Greiner bio-one 2010.)

The diagram shows a Vacuette blood collection tube label. On the left, the brand name 'VACUETTE' is written vertically. The top of the label contains the text 'X ml', 'CE', 'STERILE', 'IVD', and '0000-00 greiner bio-one'. Below this is a form with the following fields: Surname, First Name, Pat.No., DOB, Ward, Date, Time, and Sig. To the right of the form is a vertical scale from 000000 to L000000. At the bottom of the label, there is a series of 'X' characters and a black arrow pointing downwards, indicating the correct fill level.

KUVA 1. Oikeaa täyttöastetta kuvaava nuoli. Vacuette-hyytymisputken etiketin malli. (Kahila 2012).

Aluksi INR-arvoja seurataan 1–2 kertaa viikossa, mutta kun haluttu hoitotaso on saavutettu, voidaan niitä seurata 3–4 viikon välein (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 288). Eksoten (2012a) laboratoriokeskuksen ohjekirjassa suositellut hoitotasot ovat laskimotromboosin ehkäisyssä, tromboosin ja embolian hoidossa sekä systeemisen embolian estossa 2,0–3,0 ja mekaanisessa keinoläpässä 2,5–3,5. Terveen, AK-hoitoa saamattoman henkilön INR on noin 0,7–1,2. (Eksote 2012a.)

2.2.2 Verenvuototaipumus

Verenvuototaipumuksen syyt voivat olla primaarin hemostaasin häiriöistä tai hyytymistekijähäiriöistä johtuvia, ja ne voivat olla periytyviä tai hankinnallisia. Hankinnaiset verenvuotohäiriöt ovat perinnöllisiä yleisempiä, ja ne liittyvät yleensä erilaisiin sairauksiin tai potilaan käyttämiin lääkityksiin. Vuototaipumukseen viittaavia tekijöitä ovat esimerkiksi suhteettoman suuri vuoto traumaan nähden vaikkapa hampaanpoiston yhteydessä, runsaat ja pitkään kestävät nenäverenvuodot sekä verensiirtoja vaatinut vuodoista johtuva anemisoituminen. (Koski 2010b, 162–169.)

Primaarin hemostaasin häiriöissä yleinen oire ovat petekiat eli pistemäiset verenpurkaumat sekä runsaat pienet mustelmat. Lisäksi pinnalliset naarmut voivat vuotaa pitkään, mutta vuodon tyrehtyttyä ne eivät enää ala vuotaa uudelleen. Tavallisimpia syitä primaarille hemostaasille ovat trombosytopenia eli trombosyyttien vähyys ja trombosyyttien toimintahäiriöt, muita syitä ovat perinnöllinen von Willebrandin tauti ja verisuoniperäiset syyt. Primaarin hemostaasin hoito riippuu vaivan aiheuttajasta, mutta esimerkiksi trombosyyttien toimintaa häiritseviä särkylääkkeitä, kuten asetyylisalisyylihappoa, tulisi välttää. (Koski 2010b, 162–166.)

Hyytymistekijähäiriöissä verta saattaa vuotaa niveliin ja lihaksiin, ja kehossa saattaa esiintyä yksittäisiä isohkoja mustelmia. Verenvuoto saattaa tyrehtyttyään alkaa uudelleen. Yleisin periytyvän hyytymistekijähäiriön syy on hemofilia, joka periytyy X-kromosomaalisesti ja esiintyy siten lähinnä miehillä. Tauti johtuu tietyn hyytymistekijän vajauksesta, ja siksi hoitokin toteutetaan korvaushoitona antamalla sitä hyytymistekijää, joka potilaalta puuttuu. (Koski 2010b, 162–166.)

3 VERINÄYTTEIDEN SÄILYTYS JA KULJETUS

3.1 Yleistä säilytyksestä ja kuljetuksesta

Verinäytteiden käsittely, lähettäminen ja kuljetus ovat osa klinisen laboratoriotutkimusprosessin preanalyttista vaihetta, johon kuuluvat lisäksi tutkimuksiin valmistautuminen ja näytteenotto. Nykyhetken pyrkimys keskittää laboratoriotutkimuksia isompiin laboratorioihin tarkoittaa, että näytteitäkin joudutaan kuljettamaan enemmän kuin ennen. (Tapola 2003, 29.) Näytteitä kuljetetaan paljon sekä sairaanhoitopiirien sisällä että keskuslaboratorioihin valtakunnallisesti (Siloaho 2000, 185). Näytteiden lähettäminen ja kuljetus ovat alttiita preanalyttisille virheille (Tapola 2003, 29). Suositeltavaa on tarkastella ainakin yleisintä sairaanhoitopiirissa käytössä olevaa kuljetusprosessia ja antaa tutkimuksille kuljetus- ja säilytysohjeet, joista poikkeamisesta seuraa joko hylkäys tai huomautus tuloksen yhteyteen. (Kouri ym. 2002, 140.)

Oleellisia osatekijöitä näytekuljetuksessa ovat pakkaaminen, kuljetustapa, lämpötila ja aika (Solveig & Mäenpää 2000, 190). Näytteitä voidaan myös joutua säilyttämään vaikkapa yön tai viikonlopun yli ennen kuljetusta (Kouri ym. 2002, 140). Tällöin oletetaan, että näyte on säilytetty ohjeiden mukaisesti lämpötilan ja ajan suhteen (Solveig & Mäenpää 2000, 191). Näytteiden kuljetustapoja on monenlaisia ja niiden vaikutukset näytteisiin erilaisia. Erilaisia kuljetustapoja ovat esimerkiksi sairaalan sisällä kori tai putkiposti, laboratorioden välillä maantie-, juna- tai lentokuljetus. (Kouri ym. 2002, 140.)

Säilytyksen ja kuljetuksen aikana tapahtuu monia fysikaalisia ja kemiallisia ilmiöitä, kuten verisolujen aineenvaihduntaa, haihtumista, kemiallisia reaktioita, mikrobiologista hajoamista, kaasujen diffuusiota ja osmoosia. Myös valo vaikuttaa joihinkin näytteisiin. Näiden ilmiöiden aiheuttamia haitallisia muutoksia voidaan pyrkiä minimoimaan monin keinoin, esimerkiksi mahdollisimman nopealla kuljetuksella ja lyhyellä säilytysajalla tai kylmäsäilytyksellä, mikäli säilytysaika pitenee. Säilytysastiat on pidettävä aina suljettuina, koska haihtumista tapahtuu myös jääkaapissa. Kuljetuksen aikana kokoverinäytteet tulisi säilyttää pystyasennossa ja välttää tärinää hemolyyysin ehkäisemiseksi. (Siloaho 2000, 185–186.) Näytteitä ei yleensä säilytetä kokoverenä (Tapola 2003, 30).

Suurin osa näytteistä voidaan lähettää huoneenlämmössä, jolloin ne pakataan kuljetuslaatikkoihin ilman kylmävaraajia. Kylmässä kuljetettavat näytteet pakataan styroksoteloihin jääkaappilämpöisten kylmävaraajien kanssa. Pakastenäytteitä kuljetettaessa on varmistuttava siitä, etteivät näytteet sula kuljetuksen aikana, siksi ne pakataan styroksoteloon hiilihappojäiden tai pakastettujen kylmävaraajien kanssa. Ulkopuolisia kuljetusosapuolia käytettäessä lämpötilan kontrollointi voi olla hankalaa ja epävarmaa. (Solveig & Mäenpää 2000, 190–191.) Lämpötilan rajuja vaihteluita kuljetuksen aikana tulee välttää (Greiner bio-one 2009a, 37).

3.2 INR-näytteen säilytys ja kuljetus

Plasmanäytteet tulee sentrifugoida mahdollisimman nopeasti, sillä soluista voi diffuusion avulla siirtyä yhdisteitä plasmaan, jolloin siitä saatavat arvot voivat muuttua. Yleensä plasmanäytteet säilytetään 4°C:ssa, pidempään kestävässä säilytyksessä -20°C:ssa. Vain seerumi- ja plasmanäytteitä voidaan jäädyyttää, koska verisolut rikkoutuvat jäätyessään. Jäädätyksen tulisi olla nopea proteiininrakenteiden säilymiseksi, ja yleensä suositellaan hidasta sulatusta. (Greiner bio-one 2009a, 36.) Sulatettuja näytteitä ei saa jäädyyttää uudelleen (Greiner bio-one 2009, 57).

Ohjeet INR-näytteen säilyvyydestä kokoverenä vaihtelevat Suomessa laboratorioittain. Eksoten (2012a) laboratorio-ohjekirjan mukaan AK-hoitoa saavan potilaan näyte säilyy vuorokauden ja muut näytteet viisi tuntia huoneenlämmössä. Näytemuodosta ei kuitenkaan ole mainintaa, eikä muita ohjeita kuljetuksesta tai säilytyksestä anneta. Usean laboratorion mukaan INR-näyte säilyy kokoverenä 24 tuntia huoneenlämmössä (HUSLAB 2011; Kanta-Hämeen keskussairaalan laboratoriot 2012; OYSLAB 2012; Tykslab 2012; Yhtyneet Medix laboratoriot 2012). Osassa laboratorioden ohjekirjoista kielletään näytteen säilyttäminen jääkaapissa (Kanta-Hämeen keskussairaalan laboratoriot 2012; OYSLAB 2012; Vaasan keskussairaala 2011; Yhtyneet Medix laboratoriot 2012). Itä-Suomen laboratorioliikelaitoskuntayhtymä ISLAB:n (2012) ohjekirjassa näytteen kerrotaan säilyvän huoneenlämmössä kaksi päivää sekä kokoverenä että plasmana, mutta jos näytteenotosta on kulunut yli 30 tuntia ja INR-arvo on yli 4,5, lisätään tulokseen lausunto tuloksen todennäköisestä laskemisesta näytteen ikääntymisen johdosta. Yhteenveto suomalaisten laboratorioden kuljetus- ja säilytyskäytännöistä on kerätty liitteeseen 1.

Muun muassa INR-analyysissä käytettäviä natriumsitraattiputkia valmistavan putki-valmistaja Greiner bio-onen (2009) mukaan tromboplastiiniajan määrittäminen käytettävien näytteiden tulisi sentrifugoida ja analysoida neljän tunnin kuluessa näytteenotosta. Mikäli näytettä ei pystytä analysoimaan neljän tunnin kuluessa, tulee näyte sentrifugoida ja pakastaa, -20°C:ssa näyte säilyy kaksi viikkoa ja -70°C:ssa puoli vuotta. Sitraattiplasman kohdalla valmistaja suosittelee nopeaa sulatusta 37°C:ssa ja analysointi tulisi suorittaa välittömästi. (Kahila 2012.) Maailman terveysjärjestö WHO:n mukaan tromboplastiiniajan määrittämiseen käytettävä näyte säilyy kokoverenä stabiilina huoneenlämmössä 1–4 tuntia ja 2–6°C:ssa tunnista kahteen vuorokauteen. Verinäytteestä eroteltu plasma säilyy WHO:n mukaan stabiilina pakastettuna -20°C:ssa kuukauden, jääkaapilämmössä 4–8°C:ssa tunnista kahteen päivään ja huoneenlämmössä 20–25°C:ssa 1–4 tuntia. (World Health Organisation 2002, 42.)

3.3 Näytteiden säilytykseen ja kuljetukseen liittyviä tutkimuksia

Hematologisten ja hyytymistutkimusnäytteiden kuljettamista putkipostilla on tutkittu aikaisemmin. Tutkimuksissa terveiltä vapaaehtoisilta kerättiin kaksi näytettä, joista toinen säilytettiin laboratoriossa tai kuljetettiin laboratorioon jalan ja toinen lähetettiin putkipostilla. Putkipostilla kuljettamisen ei havaittu vaikuttavan merkittävästi tavallisiin hematologisiin ja hyytymistutkimuksiin. (Kratz, Salem & Van Cott 2007, 293–296; Wallin, Söderberg, Grankvist, Jonsson & Hultdin 2008, 1443–1447.)

Näytteiden kuljettamista on tutkittu myös stimuloimalla kuljetusolosuhteita, esimerkiksi erilaisia lämpötiloja ja ravistelua eri voimakkuuksilla. Tutkimuksessa tarkasteltiin eri kemian analyyttien, hormonien, proteiinien, entsymien, hematologian analyyttien ja hyytymistekijöiden stabiiliutta. Kaikkien muiden paitsi hyytymistekijöiden ja trombosyyttien havaittiin olevan stabiileja neljä vuorokautta +4 ja +20 °C:ssa. Hyytymistekijätkin pysyivät stabiileina -20 °C:ssa neljä vuorokautta. Ravistelussa hyytymistekijät eivät säilyneet stabiileina, mutta muihin analyytteihin sillä ei ollut vaikutusta. (Felding, Hyltoft & Hørder 1981, 35–40.)

Leinon ja Koivulan (2009, 159–161) tutkimuksessa tutkittiin kemiallisten ja immuno-kemiallisten näytteiden säilyvyyttä litium-hepariiniputkissa kokoverenä. Tutkimuksessa verrattiin välittömästi eroteltua ja analysoitua plasmaa ja kokoverenä kuusi tuntia säilytettyjä näytteitä. Kokoverinäytteitä säilytettiin +8°C ja +22°C lämpötiloissa ja ana-

lysoitiin kuuden tunnin kuluttua näytteenotosta. Tutkimuksessa ainoastaan yhden analyytin pitoisuudet muuttuivat huomattavasti $+8^{\circ}\text{C}$ kokoverenä säilytettäessä. Tutkimuksen perusteella suositeltiin plasman välitöntä erottamista, kuitenkin näytteiden todettiin säilyvän myös kokoverenä kuuteen tuntiin asti.

4 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSKYSYMYKSET

Opinnäytetyön tarkoituksena oli kuvata, miten jääkaappisäilytyksen jälkeen kokoverestä ja plasmasta saadut tulokset eroavat toisistaan sekä näytteenottopäivänä analysoidusta tuoreesta näytteestä. Tavoitteena oli selvittää, voidaanko näytteitä säilyttää kokoverenä jääkaapissa, ja tuottaa tietoa, jolla voidaan parantaa maakunnista kuljetettavien ja säilytystä vaativien näytteiden laatua ja luotettavuutta sekä potilasturvallisuutta.

Työn tutkimuskysymykset:

1. Miten kokoverenä säilytetyn INR-näytteen tulokset eroavat plasmana säilytetyn näytteen tuloksista?
2. Miten kokoverenä säilytetyn näytteen INR-tulokset eroavat tuoreesta näytteestä saadusta tuloksesta?

5 TYÖN TOTEUTUS

5.1 Tutkittavat näytteet

Työn toimeksiantaja Eksoten laboratoriokeskuksen klinisen kemian laboratorio sijaitsee Etelä-Karjalan keskussairaalassa Lappeenrannassa. Laboratorio tuottaa muun muassa klinisen kemian, immunokemian, hematologian ja immunohepatologian tutkimuksia Eksoten sairaaloille, terveyskeskuksille, työterveysasemille ja yksityislääkärin asiakkaille (Eksote 2012b). Eksote-kuntayhtymään kuuluvat Imatran, Lappeenrannan, Lemin, Luumäen, Parikkalan, Rautjärven, Ruokolahden, Savitaipaleen ja Taipalsaaren kunnat, ja sen kotipaikka on Lappeenrannan kaupunki. (Eksote 2008, 2).

Tutkimuksessa käytettävät näytteet kerättiin kahdesta Eksoten aluelaboratoriosta ja lähetettiin tavanomaisen maantienäytekuljetuksen mukana Lappeenrantaan klinisen kemian laboratorioon. Näytteet saatiin opinnäytetyöhön liittymättömässä verinäytteenotossa käyneiltä asiakkailta, joiden tutkimuksissa oli mukana P-TT-INR. Opinnäytetyön näytteinä käytettiin samaa näyteputkea, josta henkilön INR vastattiin hoitavaan yksikköön. Putkesta poistettiin tunnistetiedot, ja näyte jaettiin kahteen erotteluputkeen. Toinen näyte jätettiin kokovereksi ja toinen sentrifugoitiin plasman erottamiseksi. Tämän jälkeen näytteet kuljetettiin Lappeenrantaan. Lappeenrannassa plasmanäytteille tehtiin INR-analyysi tuoreen näytteen tuloksen saamiseksi, minkä jälkeen ne laitettiin jääkaappiin yön ajaksi. Kokoverinäytteet laitettiin suoraan jääkaappiin yön ajaksi.

Näytteiden keräämiseen käytettiin Greiner bio-onen hyytymistutkimuksiin tarkoitettuja Vacuette®-putkia. Tutkimukseen käytettiin 2,7 ml putkia (REF# 454334), jotka sisälsivät 3,2 tilavuus% natriumsitraattia (Greiner bio-one 2009, 1).

Tutkimukseen käytettävästä näytemäärästä sovittiin laboratoriokeskuksen osastonhoitajan kanssa. Tavoitteena oli, että tulosten perusteella voidaan tehdä päätelmiä INR-näytteen säilyvyydestä kokoverenä jääkaapissa. Sovimme vähintään 30 henkilön näytteiden käytöstä. Työtä varten haettiin Eksotelta tutkimuslupa, joka on liitteessä 2. Eri henkilöistä kerättyjä näytteitä saatiin yhteensä 54, joista 16:ta ei voitu käyttää opinnäytetyössä, koska niistä puuttui kokoverinäyte. Lisäksi 13 näytettä tuli ohjeiden vastaisesti kahteen eri natriumsitraattiputkeen otettuna. Nämäkin näytteet otettiin

mukaan tutkimukseen siten, että toinen näytteistä sentrifugoitiin plasmaksi ja toinen säilytettiin kokoverenä. Ohjeidenmukaisesti yhdestä natriumsitraattiputkesta jaettuja näytteitä saatiin 25 kappaletta. Tutkimukseen otettiin siis mukaan 38 näytettä (n=38).

5.2 Tutkimusmenetelmä

Opinnäytetyön tutkimusmenetelmäksi valikoitui kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus. Määrällisessä tutkimuksessa tieto esitetään numeerisesti. Aineisto kerätään mittarilla, joka voi olla esimerkiksi kysely- tai havainnointilomake. Tutkimuksella saadaan tietoa mitattavien ominaisuuksien, muuttujien, välisistä suhteista ja eroista. Tutkimustulokset tulkitaan ja selitetään sanallisesti. Määrällisessä tutkimuksessa tutkija ei vaikuta tulokseen, eli tutkimustulos on objektiivinen. (Vilka 2007, 15–14.)

Määrällisen tutkimuksen aineistokoko on tyypillisesti suuri. Suositeltava havaintoyksiköiden, esimerkiksi henkilöiden, vähimmäismäärä on 100, mutta isoissa tutkimuksissa niitä voi olla jopa 500-1000. Koska tässä tutkimuksessa on kyseessä opinnäytetyö, eikä suurten havaintoyksiköiden määrä ole resurssien puitteissa mahdollinen tai järkevä, on havaintoyksiköiden määrä kuitenkin merkittävästi pienempi (38 näytettä). (Vilka 2007, 17.)

Määrällisen tutkimuksen luotettavuuteen vaikuttaa reliabiliteetti, eli tulosten toistettavuus erillisten mittausten välillä. Vaikuttavia tekijöitä ovat muun muassa otoksen kuvaavuus ja satunnaisvirheiden esiintyvyys. Toinen luotettavuuteen vaikuttava tekijä on tutkimuksen validiteetti. Validi tutkimus mittaa sitä, mitä sen oli tarkoituskin mitata. (Vilka 2007, 149–150.)

Kun tutkitaan ilmiöiden syy-seuraussuhteita, on kyseessä selittävä tutkimus. Kokeellinen tutkimus on selittävän tutkimuksen erityismuoto, jossa tarkastellaan jonkin muuttujan vaikutusta tutkittavaan asiaan kontrolloiduissa olosuhteissa. Muut tutkimukseen vaikuttavat tekijät pyritään vakioimaan, jotta voitaisiin tutkia vain haluttua muuttujaa. (Heikkilä 2010, 15, 21.) Tämä opinnäytetyö on kokeellinen tutkimus, jossa havainnointiin kokoverenä jääkaapissa säilyttämisen vaikutusta INR-arvoon.

5.3 Aineiston analysointi

INR-tulokset kirjattiin ylös ja niistä muodostettiin Microsoft Excel-ohjelman avulla taulukko. Taulukointiohjelman avulla laskettiin erotusprosentit alkuperäiselle tulokselle ja säilytetylle kokoverelle sekä säilytetylle plasmalle ja kokoverelle. Lisäksi selvitettiin erotusprosenttien minimi- ja maksimiarvot.

6 TUTKIMUSTULOKSET

6.1 INR-tuloksissa ilmenevät erot plasmassa ja kokoveressä säilytyksen jälkeen

6.1.1 Yhdestä natriumsitraattiputkesta jaetut näytteet

Näytteenä käytettiin yhteen natriumsitraattiputkeen otettua näytettä, joka oli jaettu kahteen erotteluputkeen (25 näytettä). Tutkimustuloksien INR-arvojen erot olivat melko pieniä. Vain yhdessä (1) näytteessä erotusprosentti oli 0,12 %, muuten arvot olivat välillä -0,03–0,05 %. Kolmessa (3) näytteessä kokoverestä saadut arvot olivat pienempiä kuin plasmasta saadut, muilla arvot olivat plasmasta saatuja suuremmat. Näytekohtaiset tulokset on esitetty taulukossa 1.

6.1.2 Kahteen eri natriumsitraattiputkeen otetut näytteet

Osa näytteistä oli otettu kahteen erilliseen natriumsitraattiputkeen (13 näytettä). Tutkimustuloksien INR-arvojen erot olivat tällöin suurempia, kuin yhdestä natriumsitraattiputkesta jaettuna. Arvot olivat välillä -0,17– -0,08 %, eli kaikissa näytteissä kokoverestä saadut arvot olivat pienempiä kuin plasmasta saadut. Näytekohtaiset tulokset on esitetty taulukossa 2.

TAULUKKO 1. Yhteen natriumsitraattiputkeen otettujen näytteiden tulokset säilytyksen jälkeen. Vertailu plasman ja kokoveren tulosten kesken.

Näytekoodi	Plasma Tulos säilytyksen jälkeen	Kokoveri Tulos säilytyksen jälkeen	Erotus%
A1	2,12	2,10	-0,01
A2	3,15	3,07	-0,03
A3	2,28	2,29	0,00
A4	3,55	3,72	0,05
A5	2,52	2,55	0,01
A6	3,30	3,45	0,05
A7	2,91	2,97	0,02
A8	2,19	2,20	0,00
A9	2,45	2,48	0,01
A10	4,40	4,56	0,04
A11	2,25	2,29	0,02
A12	2,06	2,11	0,02
A13	1,93	1,92	-0,01
A14	3,03	2,98	-0,02
A15	2,97	3,09	0,04
A16	3,54	3,58	0,01
A17	3,57	3,63	0,02
A18	3,32	3,36	0,01
A19	2,60	2,65	0,02
A20	1,33	1,33	0,00
A21	4,11	4,16	0,01
A22	3,17	3,54	0,12
A23	1,68	1,66	-0,01
A24	1,85	1,86	0,01
A25	4,05	4,09	0,01

TAULUKKO 2. Kahteen natriumsitraattiputkeen otettujen näytteiden tulokset säilytyksen jälkeen. Vertailu plasman ja kokoveren tulosten kesken.

Näytekoodi	Plasma Tulos säilytyksen jälkeen	Kokoveri Tulos säilytyksen jälkeen	Erotus%
B1	3,42	3,06	-0,11
B2	2,57	2,24	-0,13
B3	2,85	2,59	-0,09
B4	2,39	2,17	-0,09
B5	2,97	2,65	-0,11
B6	1,96	1,71	-0,13
B7	1,05	0,88	-0,16
B8	3,32	2,88	-0,13
B9	3,14	2,90	-0,08
B10	2,36	1,97	-0,17
B11	2,72	2,39	-0,12
B12	3,03	2,72	-0,10
B13	1,51	1,33	-0,12

6.2 INR-tuloksissa ilmenevät erot tuoreesta näytteestä ja säilytetystä kokoverestä saatujen tulosten välillä

6.2.1 Yhdestä natriumsitraattiputkesta jaetut näytteet

Erot tuoreesta näytteestä ja kokoverenä säilytetystä näytteestä saatujen tulosten välillä olivat pienet, kokoverestä saadut arvot erosivat tuoreeseen näytteeseen verrattuna 0,00–0,10%. Säilytetystä kokoverestä saadut INR-arvot siis joko pysyivät samana tai kohosivat alkuperäisestä. Näytekohtaiset tulokset on esitetty taulukossa 3.

6.2.2 Kahteen eri natriumsitraattiputkeen otetut näytteet

Kahteen eri natriumsitraattiputkeen otetuissa näytteissä säilytetystä kokoverestä saadut arvot erosivat tuoreesta näytteestä saaduista tuloksista -0,11–0,00%. Säilytetyn kokoveren INR-arvot siis pysyivät samana tai pienenivät alkuperäiseen verrattuna. Näytekohtaiset tulokset on esitetty taulukossa 4.

TAULUKKO 3. Yhteen natriumsitraattiputkeen otettujen näytteiden tulokset. Vertailu tuoreen näytteen ja säilytetyn kokoveren kesken.

Näytekoodi	Tuore näyte	Kokoveri	
		Tulos säilytyksen jälkeen	Erotus%
A1	1,96	2,10	0,07
A2	2,86	3,07	0,07
A3	2,17	2,29	0,06
A4	3,42	3,72	0,09
A5	2,33	2,55	0,09
A6	3,30	3,45	0,05
A7	2,89	2,97	0,03
A8	2,10	2,20	0,05
A9	2,37	2,48	0,05
A10	4,30	4,56	0,06
A11	2,28	2,29	0,00
A12	1,96	2,11	0,08
A13	1,81	1,92	0,06
A14	2,99	2,98	0,00
A15	2,84	3,09	0,09
A16	3,28	3,58	0,09
A17	3,46	3,63	0,05
A18	3,14	3,36	0,07
A19	2,42	2,65	0,10
A20	1,23	1,33	0,08
A21	3,87	4,16	0,07
A22	3,46	3,54	0,02
A23	1,58	1,66	0,05
A24	1,69	1,86	0,10
A25	3,93	4,09	0,04

TAULUKKO 4. Kahteen natriumsitraattiputkeen otettujen näytteiden tulokset. Vertailu tuoreen näytteen ja säilytetyn kokoveren kesken.

Näytekoodi	Tuore näyte	Kokoveri	
		Tulos säilytyksen jälkeen	<i>Erotus%</i>
B1	3,25	3,06	-0,06
B2	2,35	2,24	-0,05
B3	2,67	2,59	-0,03
B4	2,18	2,17	0,00
B5	2,98	2,65	-0,11
B6	1,86	1,71	-0,08
B7	0,97	0,88	-0,09
B8	3,05	2,88	-0,06
B9	3,19	2,90	-0,09
B10	2,16	1,97	-0,09
B11	2,46	2,39	-0,03
B12	2,81	2,72	-0,03
B13	1,41	1,33	-0,06

7 POHDINTA

7.1 Tutkimuksen eettisyys ja luotettavuus

Työssä käytettävät näytteet koodattiin siten, että niistä on tunnistettavissa vain alue-laboratorio, jossa näyte on otettu, näytteen järjestysnumero sekä näytemuoto. Näin estettiin yksittäisen henkilön tunnistaminen. Näytteiden kerääminen suoritettiin tavan-omaisen näytteenoton yhteydessä, joten siitä ei aiheutunut näytteitä antaneille henki-löille ylimääräistä haittaa. Tutkimuksessa käytettävien näytteiden analysoinnin suori-tin itse muiden hyytymistutkimusnäytteiden joukossa, joten siitä ei aiheutunut toimek-siantajalle muita resurssinmenetyksiä, kuin analyysiin kuluneet reagenssit. Mitään tutkimustuloksia ei muutettu tai vääristelty, pois jätettiin ainoastaan analyysiin kel-paamattomat näytteet, joista ei ollut kokoveriputkea. Näiltä osin tutkimuksen teossa on noudatettu hyvää tieteellistä käytäntöä ja eettisiä periaatteita.

Tutkimukseen kerättyjen näytteiden antajilta ei pyydetty lupaa näytteiden käyttöön, mikä on eettisesti ongelmallista. Kliinisen kemian laboratorion osastonhoitajan mu-kaan heidän käytäntönsä on, että tavanomaisen näytteenoton yhteydessä otettuja näytteitä voidaan käyttää menetelmien testaamiseen ja vastaaviin kokeisiin, jos niistä tehdään vain alkuperäisen tutkimuksen mukaisia analyysejä. (Tolppanen 2011.) Esi-merkiksi tässä opinnäytetyössä INR-näytteistä tehtiin vain INR-analyysejä. Tutkimuk-selle saatiin tutkimuslupa Eksotelta, jossa menettely myös hyväksyttiin. Tutkimuslu-van kopio on liitteessä 2.

Tässä tutkimuksessa reliabiliteettia parantavat esimerkiksi se, että INR-analyysi suo-ritettiin samalla laitteella kaikille näytteille, jolloin laitekohtaisia eroja ei synny. Toisaal-ta mittausten välillä saattaa samallakin laitteella tulla hieman eroja. Reliabiliteetin parantamiseksi tutkimuksessa oli myös tarkoitus käyttää yhdestä natriumsitraattiput-kesta kahteen erotteluputkeen jaettua näytettä, jolloin putkikohtaisia eroja ei synny. Kuitenkin osa näytteistä oli otettu kahteen eri natriumsitraattiputkeen, mikä näiden näytteiden kohdalla huonontaa reliabiliteettia.

Tässä opinnäytetyössä validiteettia huonontaa se, että alussa ajatuksenani oli tutkia sekä kuljetuksen että säilytyksen vaikutusta INR-näytteeseen, ja säilyttää näytteitä monenlaisissa eri olosuhteissa. Aluksi tämä sopi myös toimeksiantajalle. Lopulta toi-meksiantaja kuitenkin halusi tutkimuksesta heille käytännöllisemmän, joten aihe rajat-

tiin vain kokoveren säilymiseen jääkaappilämpötilassa. Lisäksi näytteet kuljetettiin Lappeenrantaan aluelaboratorioista, joten tutkimukseen pääsi vaikuttamaan muitakin muuttujia kuin kokoverenä säilytys, esimerkiksi lämpötilanvaihtelut, joita en voinut mitata. Kuitenkin sain kerättyä sellaista tietoa, joka vastaa toimeksiantajan toiveisiin. Opinnäytetyössä käytetty havaintoyksiköiden määrä on suosituksia pienempi, vain 38 näytettä. Tämän vuoksi tutkimuksen perusteella ei voida tehdä yleistettäviä johtopäätöksiä kokoveren säilyvyydestä.

7.2 Tulosten pohdinta ja työn hyödynnettävyys

Saamissani tuloksissa mielenkiintoisinta oli mielestäni ero samasta natriumsitraattiputkesta jaettujen ja kahdesta eri natriumsitraattiputkesta olleiden näytteiden tulosten välillä. Samasta natriumsitraattiputkesta jaettujen näytteiden arvot olivat pääosin kohonneet vertailuarvosta (plasma tai alkuperäinen tulos), kun taas kahdesta eri natriumsitraattiputkesta saadut tulokset laskivat vertailuarvoon nähden. Syynä voisivat olla putkikohtaiset erot, esimerkiksi pienet eroavaisuudet antikoagulantin ja veren suhteessa.

Vaikka Tapolan (2003, 30) mukaan näytteitä ei yleensä säilytetäkään kokoverenä, saamieni tuloksien mukaan näyttäisi kuitenkin siltä, että INR-näytteitä on mahdollista säilyttää kokoverenä jääkaappilämpötilassa. Minulla ei kuitenkaan ollut käytössäni tietoa siitä, mikä on hyväksyttävä ero samasta näytteestä saaduissa INR-tuloksissa. Tulokset olivat kuitenkin mielestäni yhteneväisiä ja mielenkiintoisia, mutta vaativat tarkempaa tutkimusta isommalla näytemäärällä, jotta kokoveren soveltuvuudesta INR-näytteen säilytykseen saataisiin tarkempaa tietoa. Jääkaapissa säilyttäminen ei vaikuttanut INR-arvoihin radikaalisti, vaikka esimerkiksi Vaasan keskussairaalan (2011) ohjeistuksessa jääkaappisäilytys kiellettiin.

Koska opinnäytetyön aineisto on pieni, ovat tulokset suuntaa-antavia, eivätkä sellaisinaan hyödynnettävissä esimerkiksi säilytysohjeiden muuttamiseen. Lisäksi tutkimustulokset ovat päteviä ainoastaan Eksoten laboratoriokeskuksen alueella, sillä eri laboratorioilla on käytössään esimerkiksi erilaisia kuljetustapoja ja näyteputkia. Täydentävä tutkimus isommalla aineistolla antaisi paremmin viitteitä kokoveren soveltuvuudesta INR-näytteen säilytykseen jääkaappilämpötilassa.

7.3 Ammatillinen kehittyminen

Opinnäytetyön teko yksin oli toisaalta vapaata, koska aikataulut sai sovitettua omien tarpeittensa mukaan. Toisaalta työstä olisi saanut paljon laajemman, ja sitä myöten kattavamman, jos tekijöitä olisi ollut enemmän. Haastavimmalta tehtävältä tuntui tutkimustulosten tulkitseminen ja niiden avaaminen sanoiksi, johon kaipasinkin tukea sekä koulun että toimeksiantajan puolelta. Aikataulun muodostaminen oli myös hankalaa, koska aloitin opinnäytetyön työstämisen hyvissä ajoin keväällä 2011, mutta syksyllä 2011 ollut työharjoittelu osoittautui niin aikaavieväksi, ettei työ juuri edennyt. Lopulta aineiston keräämisen kanssa tuli kiire, ja näytteiden kerääminen tapahtui lopulta keväällä 2012 nopeassa aikataulussa. Yhteydenpito oli myös hankalaa pitkän välimatkan ja laboratorion omien kiireiden vuoksi.

Tutkimusta tehdessä syvensin tietojani preanalytiikasta ja opin ymmärtämään laajemmin näytekuljetusprosessia näytteenotosta esikäsittelyn kautta säilytykseen tai kuljetukseen. Tulevaisuudessa näytekuljetukset ja näytteiden säilyttäminen tulevat varmasti lisääntymään, joten on mielestäni hyvä, että sain tehdä opinnäytetyöni keellisestä tutkimusasetelmasta aiheeseen liittyen. Opinnäytetyön tekeminen kehitti lisäksi taitojani tutkimuksen suunnittelussa ja toteuttamisessa. Lisäksi opin ottamaan asiakasnäkökulman huomioon tutkimuksen suunnittelussa ja toteuttamisessa.

LÄHTEET

Eksote. 2008. *Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden perussopimus* [verkkodokumentti]. Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden.

Eksote 2012a. *P-Tromboplastiiniaika, INR-tulostus*. Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden.

Eksote 2012b. *Kliinisen kemian laboratorio* [verkkosivu]. Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden [viitattu 2.11.2011]. Saatavissa: <http://www.eksote.fi>.

Felding, P., Hyltoft Petersen, P. & Hørder, M. 1981. The stability of blood, plasma and serum constituents during stimulated transport. *Scandinavian Journal of Clinical Laboratory & Investigation*. 1981, nro 41, 35–40.

Greiner bio-one. 2009. *VACUETTE® Preanalytics Manual*. 980183 rev 02.

Greiner bio-one. 2010. *Fill mark and blood to additive ratio*. Tuote-esite. coag_arrow Rev.01_2010.

Halinen, M. & Lassila, R. 2000. Tekoläppäpotilaan antikoagulanttihoito. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim*. 2000, nro 116, 157–165.

Heikkilä, T. 2010. *Tilastollinen tutkimus*. 7.–8. painos. Helsinki: Edita.

Helin, T., Pakkanen, A. & Joutsen-Korhonen, L. 2012. Uusien antikoagulanttien laboratoriomonitorointi- tuloksia suomalaisilta pilottikierroksilta. *Moodi*. 2012, nro 36, 142–149.

HUSLAB. 2011. *Tromboplastiiniaika, INR-tulostus, plasmasta* [verkko-ohjekirja]. Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin laboratorio [viitattu 25.10.2011]. Saatavissa: <http://huslab.fi/>.

ISLAB. 2012. *P-Tromboplastiiniaika, INR-tulos* [verkko-ohjekirja]. Itä-Suomen laboratoriokeskus [viitattu 25.10.2011]. Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islabohje/labohje.csp>.

Joutsu-Korhonen, L. & Koski, T. 2010. Laskimotukostaipumus ja antitromboottisen oidon laboratorioseuranta. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.). *Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia*. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 285–291.

Kahila, A. 2012. *VS: Hyytymistekijäputket* [sähköpostiviesti]. Vastaanottaja Anne Kalliomäki. Lähetetty 19.1.2012 [viitattu 15.2.2012].

Kanta-Hämeen keskussairaalan laboratoriot. 2012. *Tromboplastiiniaika, INR* [verkkohjekirja]. [Viitattu 30.10.2012]. Saatavissa: <http://www.khshp.fi/>.

Koski, T. 2010a. Laskimotukostaipumus. Teoksessa Vilpo, J. (toim.). *Ilmari Palvan veritaudit*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Medivil, 172–183.

Koski, T. 2010b. Veren hyytyminen ja verenvuototaipumus. Teoksessa Vilpo, J. (toim.). *Ilmari Palvan veritaudit*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Medivil, 159–171.

Kouri, T., Koskinen, P., Leppänen, E., Malminiemi, O., Pohja-Nylander, P., Pohjavaara, S., Puukka, R. & Siloaho, M. 2002. Preanalyttisen mittausepävarmuuden laskeminen. *Moodi*. 2002, nro 26, 139–148.

Kratz, A., Salem, R. O. & Van Cott, E. M. 2007. Effects of a Pneumatic Tube System on Routine and Novel Hematology and Coagulation Parameters in Healthy Volunteers. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2007, nro 131, 293–296.

Lassila, R. 2011. *Varfariinihoito* [verkkodokumentti]. Lääkärin käsikirja. Duodecim [viitattu 2.11.2012]. Saatavissa: www.terveysportti.fi.

Leino, A. & Koivula, M. K. 2009. Stability of chemical and immunochemical analytes in unsentrifuged plasma samples. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2009, nro 46, 159–161.

Nienstedt, W., Hänninen, O., Arstila, A. & Björkqvist, S.-E. 2008. *Ihmisen fysiologia ja anatomia*. 15. –17. painos. Helsinki: WSOY.

OYSLAB. 2012. *Tromboplastiiniaika, INR-tulostus, plasmasta* [verkko-ohjekirja]. Oulun yliopistollisen sairaalan laboratorio [viitattu 31.10.2012]. Saatavissa: <http://oyslab.fi/>.

Pohja-Nylander, P. & Joutsu-Korhonen, L. 2011. *Näytteenotto hyytymistutkimuksia varten HUS-piirin ulkopuolisille laboratorioille*. Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri, toimintaohje. Tulostettu 28.6.2011.

Raatikainen, P. 2012. *Antikoagulaatiohoidon aiheet ja toteutus eteisvärinässä* [verkkodokumentti]. Lääkärin käsikirja. Duodecim [viitattu 2.11.2012]. Saatavissa: www.terveysportti.fi.

Savolainen, E.-R. 2007. Verinäytteet ja verenkuvatutkimukset. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.). *Veritaudit*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Duodecim, 85–99.

Siloaho, M. 2000. Miten näyte saadaan säilymään analysointiin saakka? *Moodi*. 2000, nro 24, 185–189.

Solveig, L. & Mäenpää, A. 2000. Näytekuljetukseen liittyvä problematiikka. *Moodi*. 2000, nro 24, 190–192.

Tapola, H. 2003. Näytteiden käsittely ja lähettäminen sekä kuljetus. Teoksessa Penttilä, I. (toim.). *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 29–31.

Tolppanen, Eila. 2011. Osastonhoitaja. Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden laboratoriookeskus. Lappeenranta syksy 2011. Suulliset tiedonannot.

Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, S. 2008. *Kliiniset laboratorionäytteet-opas näytteiden ottoa varten*. Helsinki: Tammi.

Tykslab. 2012. *P-Tromboplastiiniaika, INR-tulostus* [verkko-ohjekirja]. [Viitattu 19.11.2012]. Saatavissa: <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/>.

Vaasan keskussairaala. 2011. *P-Tromboplastiiniaika, INR-tulostus* [verkko-ohjekirja]. [Viitattu 30.10.2012]. Saatavissa: <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/fi/default.htm>.

Vilkka, H. 2007. *Tutki ja mittaa*. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Tammi.

Wallin, O., Söderberg, J., Grankvist, K., Jonsson, P. A. & Hultdin, J. 2008. Preanalytical effects of pneumatic tube transport on routine haematology, coagulation parameters, platelet function and global coagulation. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2008, nro 46, 1443–1449.

World Health Organisation. 2002. *Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations*. 2. uudistettu versio.

Yhtyneet Medix laboratoriot. 2012. *Tromboplastiiniaika* [verkko-ohjekirja]. [Viitattu 19.11.2012]. Saatavissa: <http://www.yml.fi/>.

Suomalaisten laboratorioden säilytys- ja kuljetusohjeita INR- näytteelle

Laboratorio	Säilytysohjeet	Kuljetusohjeet	Lisätietoja ja huomautuksia
Eksote	Antikoagulanttihoitoa saava potilas: 5 vkr HL Muut: 5 h HL		
HUSLAB	Kokoveri: 24 h HL	HL. Jos näyte ei ole perillä 24h kuluessa, erotellun plasman lähetys pakastettuna.	
ISLAB	Kokoveri ja plasma: 2 vrk HL		Jos näytteenotosta kulunut yli 30 tuntia ja tulos on yli 4,5, lisätään lausunto "Tulos todennäköisesti laskenut ikääntymisen johdosta."
OYSLAB	Kokoveri: 24 h HL Plasma: pakastettuna kuukauden	Plasma ja kokoveri: HL, mikäli perillä 24 h kuluessa, muuten eroteltu plasma pakastettuna	Ei jääkaappisäilytystä.
Vaasan keskussairaala	Kokoveri: ainakin 8 h Plasma: 2 vrk HL.	Plasma: HL	Ei jääkaappisäilytystä.
Kanta-Hämeen keskussairaala	Kokoveri ja plasma: 24 h HL.		Ei jääkaappisäilytystä.
TYKSLAB	kokoveri: 24 h HL.	Jos näyte ei ole perillä 24 h kuluessa, erotellun plasman lähetys pakastettuna.	Jos näyte ei perillä 24 h kuluessa, lähetetään plasma pakastettuna.
Yhtyneet Medix laboratoriot Oy	Kokoveri: 24 h HL Plasma: 2 vrk HL. Pidempiaikainen säilytys pakastettuna	Kokoveri: HL Plasma: HL, pakastettu näyte lähetetään pakastettuna	Ei jääkaappisäilytystä.

Tutkimuslupa

Etelä-Karjalan sosiaali- ja
terveydenhuollon kuntayhtymä
Sosiaali- ja terveyspiiri
Kehittämispäällikkö, nimike muutettu
koulutuspalveluksi

Viranhaltijapäätös

1

10.04.2012 Dnro 215/13.00/2012

§ 4/2012/ Tutkimuslupapäätös

TUTKIMUSLUPA / Anne Kalliomäki

Päätös

Teille on myönnetty tutkimuslupa koskien tutkimustanne "Säilytyk-
sen ja kuljetuksen vaikutus INR-näytteeseen Etelä-Karjalan sosiaali-
ja terveyspiirissä".

Loppuraportti tulee toimittaa sähköisenä Eksotelle, jotta se voidaan
mahdollisesti julkaista verkkosivuiltamme.

Lappeenrannassa 10.4.2012



Minna Jokinen
Kehittämissuunnittelija
Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveyspiiri
Koulutuspalvelut
PL 24
53101 Lappeenranta
puh. 044-7914863
minna.jokinen@eksote.fi

Tämä päätös on postitettu asianosaisille 10.4.2012



Hannele Lindberg
sihteeri

